

Detection of bone marrow infiltration of
lymphoma cells by fluorescence in situ
hybridization(FISH**法による悪性リンパ腫骨髄浸潤
の検出**)

著者	石澤 賢一
号	78
学位授与番号	3431
URL	http://hdl.handle.net/10097/45951

氏 名（本籍）
いし 石 ざわ 澤 けん 賢 いち 一

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 3 4 3 1 号

学位授与年月日 平 成 21 年 2 月 27 日

学位授与の条件 学位規則第4条第2項該当

最 終 学 歴 平 成 2 年 3 月 28 日
東北大学医学部医学科 卒業

学 位 論 文 題 目 Detection of bone marrow infiltration of
lymphoma cells by fluorescence in situ
hybridization
（FISH 法による悪性リンパ腫骨髓浸潤の検
出）

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教授 張 替 秀 郎 教授 海 野 倫 明

教授 賀 来 満 夫

論文内容要旨

悪性リンパ腫診療において適切な治療法を選択し、予後を予測するためには、組織型の確定とともに正確な病期診断が重要である。病期診断として全身 CT, PET, 骨髄穿刺/生検が必須で、診断機器の進歩により腫瘍性病変の局在診断精度は格段に進歩した。しかし骨髄病変に関しては、リンパ腫細胞は形態的に正常成熟リンパ球と類似しており、診断が困難な場合も少なくない。本研究では、リンパ腫細胞の骨髄浸潤を fluorescence in situ hybridization (FISH) 法, PCR 法で評価して、それぞれの有用性を検討した。

方 法

FISH 法は、染色体 14q32 上に存在する免疫グロブリン重鎖遺伝子を検出するプローブを用いて施行し, split signal の有無を観察した。リンパ腫細胞で染色体 14q32 に転座を有する 15 名 17 検体において、骨髄塗抹標本, 生検標本, フローサイトメトリー (FCM), 染色体分析 (G 分染法) で骨髄浸潤の有無を評価し, FISH 法での検出率と比較検討した。PCR 法は、初診時あるいは再発時十分量の検体を使用可能であった, B 細胞性非ホジキンリンパ腫 22 例を対象とした。complementary-determining region (CDR) III が増幅可能で、クローナリティーが確認された症例に関して、塩基配列決定後、症例特異的なプローブを作成し, PCR 法にて骨髄浸潤の有無を検討, 骨髄穿刺/生検の結果と比較した。

結 果

FISH 法の検討において、骨髄塗抹標本, 骨髄生検, FCM, G 分染法, FISH 法の骨髄浸潤陽性率は、それぞれ 35%, 35%, 29%, 0%, 41% であった。また FISH 法は他の検査法の陽性症例をすべてカバーしており、骨髄生検で陰性とされた 1 症例でも浸潤を検出可能であった。PCR 法では、22 例中クローナリティーが確認されて、症例特異的なプローブが作成可能であったのは 14 例。それらを用いた PCR 法で骨髄浸潤が確認されたのは 13 例 (92.9%)。一方通常の状態学的検査で骨髄浸潤が確認されたのは 22 例中 4 例 (18.2%) であった。

考 察

14q32 に転座を有する症例に関しては、FISH 法は他の検査法と比較して陽性率が高く、病期診断において既存の検査法で骨髄浸潤の明確な判断が困難な症例に対しては、特に有用性が高いと推察された。PCR 法は様々な組織型の B 細胞性リンパ腫に対して適応可能であり、形態学的な検索より感度が高く、治療前のほとんどの症例で骨髄浸潤が確認された。また治療効果判定、経過

追跡に応用可能であることが示唆された。しかし FISH 法と比較して手技が煩雑で、症例の層別化が困難であり、14q32 の転座を有する症例の病期決定に関しては、FISH 法の利便性が高いと考えられた。

結 論

FISH 法、PCR 法ともに、既存の検査法より骨髓浸潤の検出感度が高く有用であり、各検査法の特徴により、症例、目的に応じた使い分けが必要である。

審 査 結 果 の 要 旨

悪性リンパ腫診療において適切な治療法を選択し、予後を予測するためには、組織型の確定とともに正確な病期診断が重要である。腫瘍性病変の局在診断は、CT、PET など診断機器の進歩によりその精度が格段に向上したが、骨髓病変に関しては、現在も骨髓穿刺/生検による形態学的診断によるため、診断が困難な場合も少なくない。本研究は、悪性リンパ腫において高頻度に転座が認められる免疫グロブリン重鎖 (IgH) 遺伝子を対象とした fluorescence in situ hybridization (FISH) 法、および免疫グロブリン遺伝子の complementary-determining region (CDR) III 部位のクロナリティーを指標とした PCR 法を用い、これらの分子診断法が、悪性リンパ腫細胞の骨髓浸潤の診断において形態学的診断法に代わり得る診断法であるかどうか検討した研究である。その結果、FISH 法については、骨髓塗抹標本の鏡検法、骨髓生検の病理組織診断、FCM、G 分染法いずれの診断法よりも陽性率が高かった。これらの結果から、IgH 遺伝子の転座を有する症例に関しては、既存の検査法で骨髓浸潤の明確な判断が困難な症例に対しては、FISH 法の有用性が高いと推察された。また、PCR 法では、症例特異的なプローブが作成可能であった症例のうち 92.9% で陽性所見が得られた。この結果から PCR 法は、その高い感度によりほとんどの症例で微小病変が検出可能であり、むしろ、臨床的骨髓浸潤の診断基準として用いるには实际的ではないと考えられた。但し、治療後に PCR 法で陰性化する症例は予後がよい傾向が認められたため、治療効果判定、経過追跡に応用可能であることが示唆された。この研究により、FISH 法、PCR 法といった分子診断法は、症例、目的に応じて適用することにより悪性リンパ腫の骨髓診断に極めて有用であることが明らかとなった。この研究は、悪性リンパ腫の診断・治療に直接応用可能な臨床研究であり、その治療成績の向上に大きく貢献する研究であると考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。